

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

---

**TRẦN THỊ LIÊN**

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ HOẠT TÍNH  
SINH HỌC CỦA PHỤ PHẨM CHÈ TRONG QUÁ TRÌNH CHẾ  
BIẾN CHÈ KHÔ CỦA LOÀI CHÈ XANH (*CAMELLIA  
SINENSIS* (L.) KUNTZE) Ở THÁI NGUYÊN**

**Chuyên ngành: HOÁ HỮU CƠ**

**Mã số: 60.44.01.14**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT**

**Người hướng dẫn khoa học: TS. NGUYỄN THỊ THANH HƯƠNG**

**THÁI NGUYÊN, NĂM 2014**

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN**  
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

---

**TRẦN THỊ LIÊN**

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ HOẠT TÍNH  
SINH HỌC CỦA PHỤ PHẨM CHÈ TRONG QUÁ TRÌNH CHẾ  
BIẾN CHÈ KHÔ CỦA LOÀI CHÈ XANH (*CAMELLIA  
SINENSIS* (L.) KUNTZE) Ở THÁI NGUYÊN**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT**

**THÁI NGUYÊN, NĂM 2014**

## MỞ ĐẦU

### 1. Lý do chọn đề tài

Chè xanh có tên khoa học *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. Đó là loại đồ uống quen thuộc ở Việt Nam và nhiều nước châu Á từ hàng ngàn năm.

Dịch chiết lá chè có hoạt tính sinh học rất cao, chủ yếu là do các poliphenol trong chè. Ngày nay đã tìm được tác dụng của poliphenol chè ở mức độ khác nhau đối với bệnh ung thư, bệnh tim mạch, bệnh cao huyết áp, bệnh đường ruột, bệnh răng và có tác dụng làm chậm quá trình lão hóa, tăng tuổi thọ. Poliphenol chè được sử dụng có hiệu quả và an toàn trong công nghệ thực phẩm để thay thế các antioxidant tổng hợp như BHA, BHT dễ gây tác dụng phụ có hại. Nhờ những tác dụng quý giá như nói trên của các poliphenol chè, nên chúng có giá trị cao trên thị trường hiện nay.

Thái Nguyên là tỉnh Trung du nổi tiếng với sản phẩm chè xanh, nhưng hiện nay mới chỉ sản xuất Chè (khô) cho tiêu dùng trong nước hay xuất khẩu, vì vậy mới sử dụng chè búp và lá chè non, còn lại lượng rất lớn lá chè già, chè cám và các phụ phẩm chè khô hiện còn bị bỏ phí, làm cho hiệu quả canh tác cây chè vẫn còn thấp. Như vậy, ở đó còn tiềm tàng một nguồn lợi lớn, có thể từ đó tạo ra nguồn nguyên liệu làm thuốc chữa bệnh, bổ dưỡng và các chất phụ gia có giá trị cao trong công nghiệp thực phẩm. Nếu khai thác được nguồn poliphenol chè từ lá chè già và phụ phẩm chè chắc chắn sẽ nâng cao đáng kể hiệu quả canh tác của các vùng trồng chè.

Dựa trên nguồn nguyên liệu phong phú đó, chúng tôi đã lựa chọn đề tài: **"Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của phụ phẩm Chè trong quá trình chế biến Chè (khô) của loài Chè xanh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) ở Thái Nguyên"**.

### 2. Mục tiêu của đề tài

2.1 Nghiên cứu xác định nguyên liệu chè phụ phẩm để thu cao chè tổng.

2.2 Khảo sát thành phần hóa học của chè khô phụ phẩm.

2.3 Xác định hoạt tính sinh học của cao chè thu được: hoạt tính chống oxi hóa, hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, hoạt tính gây độc tế bào với dòng ung thư ở người (KB).

### 3. Đối tượng nghiên cứu

Các phụ phẩm và phế phẩm chè thải loại của quá trình sản xuất chè xanh như: lá chè già, chè cám và vụn chè... của giống chè Trung du (chiếm  $\approx 78\%$  diện tích đất trồng chè) được chế biến bằng công nghệ chế biến chè xanh truyền thống.

### 4. Phạm vi nghiên cứu

Đề tài được nghiên cứu trên các phụ phẩm chè của giống chè Trung du trong quá trình chế biến chè xanh tại một số cơ sở sản xuất chè xanh trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên bằng công nghệ thủ công truyền thống.

### 5. Phương pháp nghiên cứu.

1. Điều tra, thu thập, phân loại mẫu các phụ phẩm và phế phẩm chè thải loại của quá trình sản xuất chè khô thực nghiệm tại một số đơn vị trồng và chế biến chè tại địa bàn Thái Nguyên.

2. Xử lý mẫu thực vật và chiết mẫu bằng dung môi thích hợp (cồn thực phẩm, nước) để thu được các dịch chiết nhằm nghiên cứu thành phần hóa học. Nghiên cứu chọn điều kiện thích hợp (nguyên liệu, dung môi, môi trường, điều kiện, nhiệt độ, thời gian) để chiết được chọn lọc các dịch chiết.

3. Dịch chiết được tinh chế sơ bộ bằng cách chiết phân đoạn trong các dung môi có độ phân cực khác nhau hoặc lọc qua nhựa trao đổi.

4. Sử dụng phổ ESI-MS,  $^1\text{H}$  – NMR,  $^{13}\text{C}$  – NMR, DEPT để xác định thành phần, cấu trúc của các chất thu được.

5. Nghiên cứu thực hiện quy trình chiết tách chất từ các mẫu phụ phẩm và phế phẩm chè thải loại qui mô phòng thí nghiệm bao gồm các bước như sau:

- Xác định mẫu để hàm lượng cao chè thu được cao nhất.
- Khảo sát điều kiện chiết như: nguyên liệu, môi trường, dung môi, nhiệt độ, thời gian, điều kiện.
- Nghiên cứu chọn lọc dung môi chiết an toàn, giá thành hợp lý (nước, cồn thực phẩm,...)

6. Sau khi có được các thông số cần thiết sẽ tiến hành nghiên cứu quy trình chiết tách cao chè từ nguyên liệu chè phụ phẩm mà đề tài xác định được.

7. Đánh giá tính khả thi và hiệu suất kinh tế của quy trình chiết tách cao chè xanh từ nguyên liệu chè phụ phẩm để đưa ra quy trình chiết mẫu khả thi, thực tiễn.

8. Khảo sát hoạt tính chống oxi hóa, hoạt tính vi sinh vật kiểm định, hoạt tính kháng ung thư người trên dòng *KB* của cao chè chiết xuất được.

# CHƯƠNG 1

## TỔNG QUAN

### 1.1. Giới thiệu về loài Chè (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

#### 1.1.1. Tên khoa học

**Tên Khoa học:** *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. var. *assamica* (Mast.) Piere sec. Phamh. var. *bohea* (L.) Pierre sec. Phamh. var. *cantoniensis* (Lour.) Pierre sec. Phamh. var. *viridis* (L.) Pierre sec. Phamh.

**Tên tiếng Việt:** Chè; Trà.

**Tên khác:** *Thea sinensis* L., *Thea assamica* Mast, *Camellia assamica* (Mast.) H. T. Chang, *Thea sinensis* L. var. *assamica* (Mast.) Pierre; *Thea bohea* L., *Camellia bohea* (L.) Lindl. in Lour, *Thea sinensis* L. var. *bohea* (L.) Pierre; *Thea cantoniensis* Lour., *Thea sinensis* L. var. *cantoniensis* (Lour.) Pierre; *Thea viridis* L., *Camellia viridis* (L.) Link, *Thea sinensis* L. var. *viridis* (L.) Pierre;

Cây chè được xếp trong phân loại thực vật như sau [16]:

Ngành	Hạt kín	<i>Angiospermae</i>
Lớp	Song tử điệp	<i>Dicotylednae</i>
Bộ	Chè	<i>Theales</i>
Họ	Chè	<i>Theaceae</i>
Chi	Chè	<i>Camellia (Thea)</i>
Loài	Chè	<i>C.sinensis</i>

#### 1.1.2. Đặc điểm thực vật của loài chè Trung du

**Thân và cành:** Cây chè có thân thẳng và tròn, phân nhánh liên tục thành một hệ thống cành và chồi. Tùy theo chiều cao, kích thước của thân và cành, cây chè được chia thành 3 loại: cây bụi, cây gỗ nhỏ và cây gỗ vừa. Thân, cành và lá tạo thành tán cây chè; tán chè để mọc tự nhiên có dạng vòm đều.

**Hoa chè:** Hoa chè bắt đầu nở khi cây chè đạt 2 – 3 tuổi, hoa mọc từ chồi sinh thực ở nách lá. Cây chè là một loại thực vật có hoa lưỡng tính, tràng hoa có 5 – 9 cánh màu trắng hay phớt hồng. Bộ nhị đực của hoa có 100 – 400 cái, trung bình có 200 – 300 cái. Các bao phấn của hoa chè gồm hai nửa bao, chia làm 4 túi phấn.

Quả chè: Quả chè là loại quả có 1 – 4 hạt, có hình tròn, tam giác hoặc hình vuông, quả chè thường mọc thành từng chùm ba, ban đầu có màu xanh của chồi.

Lá chè: Lá chè mọc cách nhau trên cành, mỗi đốt có một lá. Hình dạng và kích thước của lá chè thay đổi tùy theo từng giống. Giống chè Trung du: lá dài 4 – 14cm và rộng 2 – 2,5cm có màu xanh nhạt và bóng [16].



**Hình 1.1.** Dịch chiết chè từ lá cây Chè



**Hình 1.2.** Hình hoa và quả của cây Chè



**Hình 1.3.** Hình thân cây Chè



**Hình 1.4.** Hình các bộ phận của cây Chè

### 1.1.3. Nguồn gốc và phân loại các loài Chè

#### Nguồn gốc

Theo truyền thuyết, cây chè lần đầu tiên được phát hiện bởi người Trung Quốc. Đầu tiên được sử dụng như một dược liệu, sau trở thành một thứ đồ uống mang đậm tính dân tộc của Trung Quốc. Ngày nay, cây chè được trồng ở nhiều nơi trên thế giới trong vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, trải dài từ 30 vĩ độ nam đến 45 vĩ độ bắc, tập trung chủ yếu ở các nước Châu Á chiếm 80-90% tổng diện tích chè thế giới [16].

Trong đó nổi tiếng là Ấn Độ, Trung Quốc, Kenya, Sri Lanka, Thổ Nhĩ Kỳ và Việt Nam [75].

Đến nay có 56 nước trồng chè, sản xuất và chế biến chè ở các quy mô khác nhau, phân bố ở khắp 5 châu như sau:

Châu Á có 20 nước bao gồm Trung Quốc, Ấn Độ, Srilanca, Indonexia, Nhật Bản, Thổ Nhĩ Kỳ, Banglades, Iran, Myanma, Việt Nam, Thái Lan, Lào, Malayxia, Campuchia, Nepal, Philippin, Triều Tiên, Apganistan và Pakistan.

Châu Phi có 21 nước bao gồm Kenia, Malavi, Uganda, Iazania, Moozambich, Ruanda, Mali, Ghine, Morixom, Nam Phi, Ai Cập, Cônggô, Camorun, Đảo rêuynion, Tchat, Rôdêria, Abitxi, Brundi, Maroc, Angiêri và Zimbabuê.

Châu Mỹ có 12 nước bao gồm Achentina, Braxin, Pêru, Colômbia, Êcuado, Guatêmalala, Praguay, Jamaica, Mêhicô, Bôlivia, Guyanna và Mỹ.

Châu Đại Dương có 3 nước bao gồm Paqua Tân Ghinê, Fiji và Australi.

Châu Âu có Cộng Hoà Liên Bang Nga và Bồ Đào Nha [15].

Ở Việt Nam, chè được trồng trong khoảng 30 tỉnh, trung du 14 tỉnh trong đó vùng trung du và miền núi phía Bắc chiếm khoảng trên 60%, Tây Nguyên khoảng 14%, còn lại là các vùng khác [16].

### **Các vùng trồng chè ở Việt Nam**

Tây Bắc: Sơn La, Lai Châu, Điện Biên, Yên Bái.

Đông Bắc: Quảng Ninh, Lạng Sơn, Bắc Giang, Cao Bằng.

Trung du và miền núi phía Bắc: Thái Nguyên, Phú Thọ, Hòa Bình, Hà Nội, Vĩnh Phúc.

Cực bắc miền Trung: Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Tây Nguyên, Lâm Đồng, Gia Lai, Kon Tum [76].

### **Phân loại**

Dựa theo đặc điểm thực vật học, đặc điểm sinh hoá, nguồn gốc phát sinh cây chè, Cohen Stuart (1919) đã chia *Camellia Sinensis* (L.) Kuntze thành 4 loại:

#### **a. Chè Trung Quốc lá to (*Camellia sinensis* var. *Macrophylla*)**

Đặc điểm: Thân gỗ cao tới 5m trong điều kiện sinh trưởng tự nhiên. Lá to, dài 12-15cm, rộng 5-7cm, màu xanh nhạt, bóng, năng suất phẩm chất tốt. Nguyên sản ở Vân Nam, Tứ Xuyên (Trung Quốc).



b. *Chè Trung Quốc lá nhỏ (Camellia sinensis var.Bohea)*

Đặc điểm: Cây bụi thấp, phân cành nhiều. Lá nhỏ, màu xanh đậm dài 3,5-6,5cm, năng suất phẩm chất bình thường. Khả năng chịu rét ở nhiệt độ -12<sup>0</sup>C đến -15<sup>0</sup>C. Phân bố chủ yếu ở miền đông, Đông Nam Trung Quốc, Nhật Bản và một số vùng khác.

c. *Chè Shan (Camellia sinensis var.Shan)*

Đặc điểm: Thân gỗ, cao từ 6-10m, lá to và dài 15-18cm, màu xanh nhạt. Tôm chè có nhiều lông tơ, trắng và mịn trong như tuyết. Có khả năng thích ứng trong điều kiện ẩm, địa hình cao, năng suất, phẩm chất thuộc loại tốt nhất. Nguyên sản ở Vân Nam (Trung Quốc), miền Bắc của Miền Điện và Việt Nam.

d. *Chè Ấn Độ (Camellia sinensis var. Assamica)*

Đặc điểm: Thân gỗ cao tới 17m, phân thưa cành. Lá to dài tới 20-30cm, mỏng mềm và xanh đậm, phiến lá gợn sóng, có 12-15 đôi gân lá, rất ít hoa, quả, chịu rét và chịu lạnh kém, cho năng suất búp cao và chất lượng tốt, được trồng nhiều ở Miền Điện, Việt Nam.



**Hình 1.5.** *Chè Trung du*



**Hình 1.6.** *Chè Trung Quốc lá*



**Hình 1.7.** *Chè Shan*



**Hình 1.8.** *Chè Trung Quốc lá*

## **1.2. Thành phần hoá học của chè**

### **1.2.1. Nước**

Nước là thành phần chủ yếu trong búp chè. Trong búp chè (1 tôm + 3 lá) hàm lượng nước thường có từ 75-82%. Hàm lượng nước trong búp chè thay đổi tùy theo giống, tuổi cây, đất đai, kỹ thuật canh tác, thời gian hái và tiêu chuẩn hái...

### **1.2.2. Poliphenol**

Nhóm các hợp chất poliphenol là thành phần được quan tâm nhiều nhất trong lá chè. Các hợp chất poliphenol của lá chè rất khác với các hợp chất poliphenol được tìm thấy trong các loại cây khác. Các cấu tử chính chiếm đa số là các catechin (C, EC, EGCG, EGC, ECG,...). Ngoài ra, trong thành phần poliphenol của chè còn có một số chất khác tỉ lệ thấp như các flavonol (quercetin, kaempferol, rutin,...) các dẫn xuất glucoside như myricetin - 3 - glucoside, kaempferol-3-rhamnoglucoside..., các leucoanthocyanin, các hợp chất poliflavonoit như theaflavin (theaflavin-3-gallate, theaflavin-3'-gallate, theaflavin-3,3'-digallate...), thearubigin (procyanidine, procyanidine gallate...). Các dạng hợp chất như theaflavin, thearubigin chiếm tỉ lệ rất thấp trong búp chè và lá chè non nhưng tăng dần tỉ lệ trong các lá chè già hơn [8], [38], [74].

### **1.2.3 Alkaloit**

Alkaloit là nhóm hợp chất vòng hữu cơ có chứa nitrogen trong phân tử. Phần lớn các alkaloit là những chất không màu, có vị đắng và ít hòa tan trong nước. Trong lá chè, người ta tìm thấy các alkaloit chủ yếu là caffein, theobromin và theophyllin. Trong đó, caffein chiếm khoảng 2 – 5% lượng chất khô; theobromin và theophyllin với hàm lượng nhỏ hơn rất nhiều so với hàm lượng của caffein, chiếm khoảng 0.33% khối lượng chất khô [8]. Tuy vậy, vai trò của theobromin và theophyllin trong dược tính của cây chè quan trọng hơn so với caffein [3].

### **1.2.4 Protein và axit amin**

Protein trong búp chè phân bố không đều, chiếm khoảng 15% tổng lượng chất khô của lá chè tươi. Các axit amin cơ bản trong lá chè bao gồm: aspartic, arginin, alutamic, serin, glutamin, tyrosin, valin, phenylalanin, leucin, isoleucin và theanin ... Trong đó theanin chiếm hàm lượng cao nhất, khoảng 50-60% tổng hàm lượng axit amin tự do, theanin là axit amin đặc trưng của cây chè, theanin chỉ có thể được tìm thấy ở các cây họ chè và một số ít các loài nấm [8], [45].